

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Personalizirana medicina - temeljni koncepti i primjena

Personalized medicine - basic concepts and application

SEMINRSKI RAD

Kris Oliver Jalušić

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate Study of Biology)

Mentor: prof. dr. sc. Vlatka Zoldoš

Zagreb, 2015.

Sadržaj:

1. Uvod u personaliziranu medicinu.....	3.
2. Farmakogenetika.....	4.
3. Biomarkeri u personaliziranoj medicine.....	10.
4. Personalizirani pristup u liječenju HIV-a.....	11.
5. Literatura.....	13.
6. Sažetak.....	17.
7. Summary.....	17.

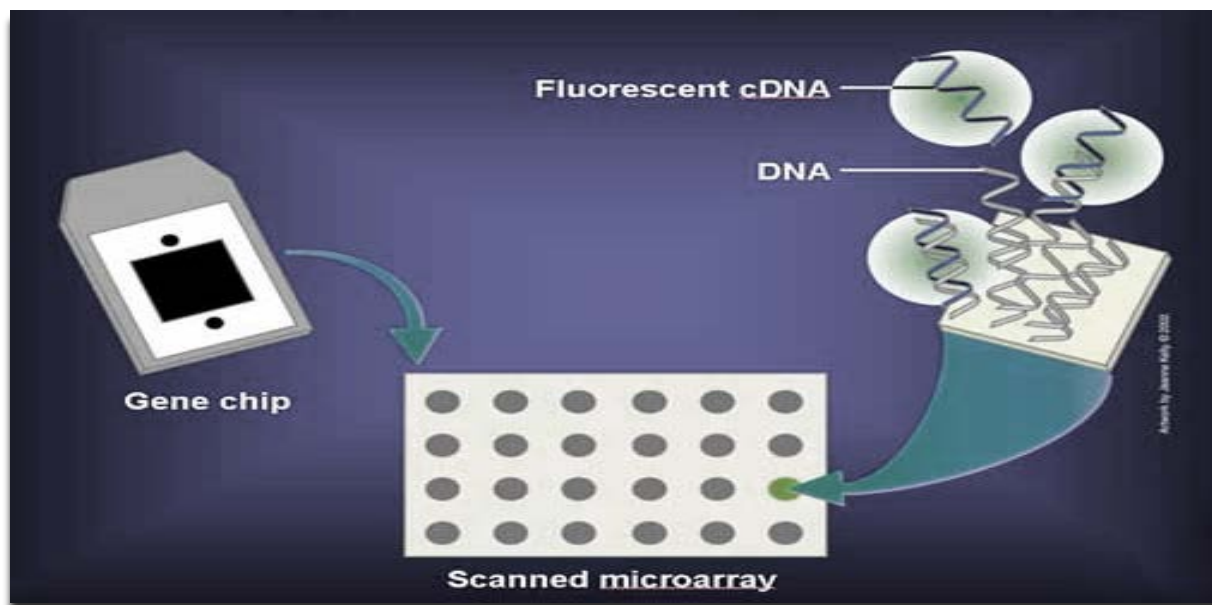
1. Uvod u personaliziranu medicinu

U posljednjih nekoliko godina se u znanostima o životu, a posebice u ljudskoj genetici i molekularnoj medicini može uočiti razvoj znanstvenih i tehnoloških metoda koje su omogućile personalizirani pristup u medicini, posebice u području multifaktorijskih bolesti. Personalizirana medicina u kontekstu razumijevanja molekularne biologije u patološkim stanjima daje uvid u novi klasifikacijski sustav bolesti, bolju prevenciju i učinkovnije liječenje. Personalizirana medicina grana je medicine koja se koristi informacijama o genima, proteinima te okolišnim faktorima s ciljem što potpunije slike pacijenata koja je u službi bolje medicinske skrbi. Hipokratova tvrdnja stara tisuću godina: „Puno je važnije poznavati osobu koja je oboljela od neke bolesti, nego bolest od koje je osoba oboljela“ ima vrlo moderno značenje i dobiva novu dimenziju u duhu personalizirane medicine (<http://www.genome.gov/glossary/index.cfm?id=150>).

Sekvencirani ljudski genom se može shvatiti kao osnovna platforma u razvoju personalizirane medicine. Naime deset godina od kako je dovršen projekt „Human Genom Project“ genomske tehnologije dovele su do eksponencijalnog pada cijena sekvenciranja genoma. Od velikih bioloških otkrića benefit imaju i pacijeti, uključujući razvoj više od stotine novih lijekova koji sadrže farmakogenomsku informaciju (http://www.genome.gov/Pages/About/NHGRI_Brochure_2015.pdf).

Dijagnostika je integralni dio svakog zdravstvenog sustava, čiji je rezultat temelj pri određivanju načina liječenja. Jedno od područja dijagnostike je molekularna dijagnostika. Molekularna dijagnostika zahvaća različite testove na molekularnoj razini te najčešće koristi, specifične genetičke sekvence u molekulama DNA ili RNA odnosno aminokiselinske sekvence u transkripcijskim proizvodima tih molekula, proteinima. Metodama molekularne dijagnostike se na temelju varijacija u genima odnosno proteinima utvrđuje da li određena osoba ima predispoziciju za razvoj bolesti, je li osoba bolesna ili koja joj terapija i koja doza najbolje odgovara. U molekularnoj dijagnostici se koriste različite metode, najčešće različite *in situ* hibridizacije, (mikro)čipovi (Slika 1.) i mikrotestovi, elektroforetsko sekvenciranje te višestruko NGS sekvenciranje (od engl. next generation sequencing). Testovi se koriste u različitim medicinskim specijalnostima, prije svega u farmakogenomici (određivanju polimorfizama molekule DNA na temelju čega se uspostavlja predviđanje djelovanja te

brzina razgradnje lijeka), patogenomiki (identifikacija infektivnih bolesti), upravljanju rizičnim bolestima (dijagnostika u kardiologiji, cistična fibroza) te onkologiji (određivanje onkogeni).



Slika 1. Mikrotest čip: mikrotest čip sadrži DNA od interesa koje hibridiziraju sa DNA sondom kada pronađu komplementarnost (Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_diagnostics#/media/File:Microarray_Comparative_Genomic_Hybridization.jpg).

2. Farmakogenetika

Europska medicinska agencija (EMA) definira farmakogenetiku kao disciplinu koja istražuje razvoj lijekova u kontekstu populacije ili pojedinca (Kollek i sur. 2004.). Farmakogenetika proučava genetički uvjetovane razlike u reakciji pacijenata na pojedini lijek. Naime, pojedini lijekovi zbog genetičke predispozicije pojedinaca izazivaju jače nuspojave odnosno izazivaju nuspojave, dok kod drugih pojedinaca isti lijekovi uopće ne djeluju ili je djelovanje smanjeno.

Područje farmakogenetike je službeno bilo prepoznato i prvi puta kao takvo artikulirano 1959. godine od strane njemačkog liječnika Friedricha Vogela. Misao o farmakogenetici može se smatrati kao odgovor na prijašnja razmatranja povezana sa raznolikom percepcijom okusa feniltiokarbamida. Dodatna uporišta farmakogenetici

pronađena su u nekim bitnim znanstvenim otrićima pedesetih godina dvadesetog stoljeća, a to su pojava hemolitičke anemije u Afroamerikanaca inducirana konzumiranjem hrane koja sadrži spoj primakvin, zatim prolongirani san nakon anestezije induciran spojem sicinil-konilom te različite nuspojave prilikom tretmana izoniazidom (Stuart, 2011.). Važno otriće na području farmkogenetike iz sedamdesetih godina prošlog stoljeća je enzim citokrom P450 2D6, produkt transkripcije gena CYP2D6 (Ingelman-Sundberg, 2005.).

2.1. Enzim citokrom P450 2D6

Nakon što je gen CYP2D6 purificiran, kloniran i sekvenciran, otkriveno je da je izravno povezan u metabolizam više od 25% lijekova korištenih u klinici. Ovaj gen je smješten u blizini dva pseudogena citokroma P450 na kromosomu 22. Danas je istraženo više o 80 varijanti gena CYP2D6. Rezultat polimorfizma gena su četiri fenotipa koja se razlikuju po brzini razgradnje lijekova. Razlikuju se spori razgraditelj ("poor"), intermedijarni razgraditelj ("intermediate"), brzi razgraditelj ("extensive") te ultra brzi razgraditelj ("ultrarapid") lijekova. Brzi razgraditelj je fenotip uzrokovan divljim tipom alela. Gen CYP2D6 hidrolizira ili oksidira supstrate (farmakološke supstance) te ih na taj način aktivira ili deaktivira, stoga doza nekog lijeka mora biti prilagođena obzirom na alel gena CYP2D6 (Ingelman-Sundberg, 2005.). Kod pacijenata se varijanta gena klinički otkriva (odnosno otkriva mu se fenotip) davanjem debrisoquina pacijentima (ovaj spoj je selektivni supstrat za enzim CYP2D6) te određivanjem koncentracije metabolita debrisoquina u krvnoj plazmi (Adrián LLerena i sur. 2009.).

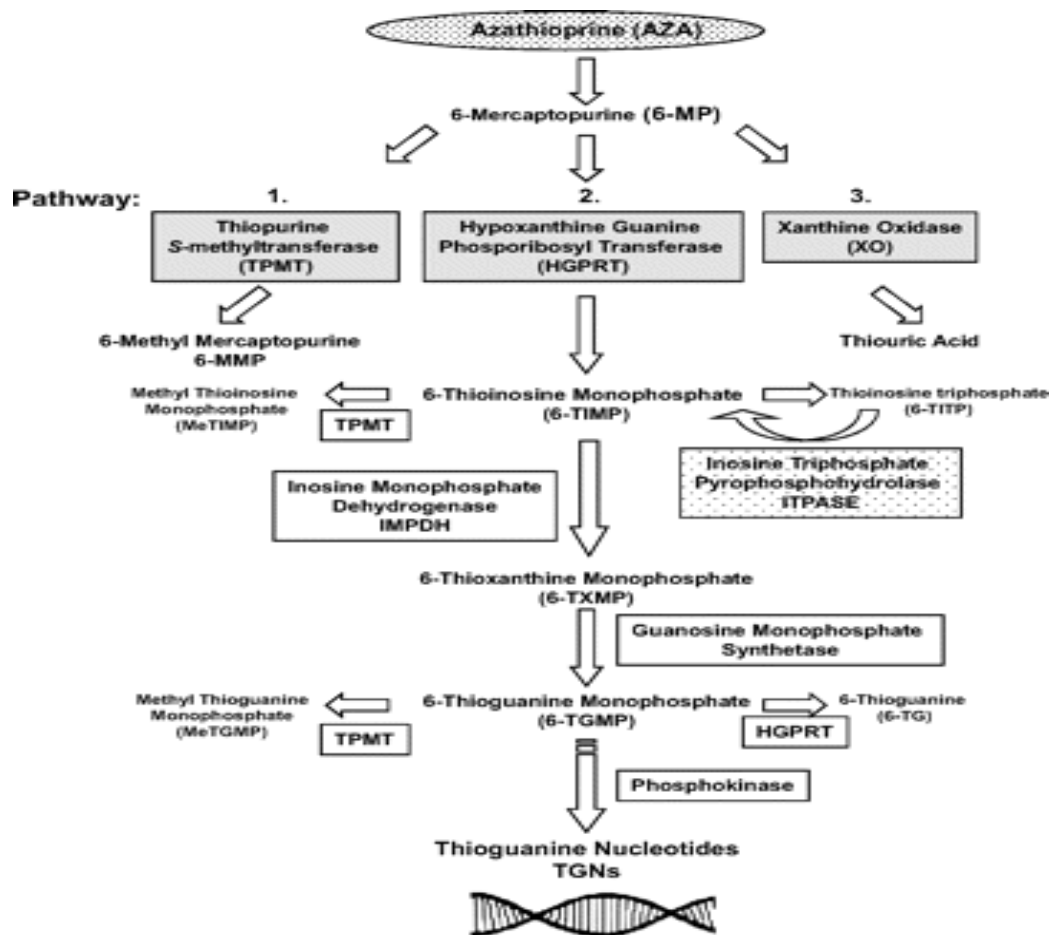
Poznavanje polimorfizama gena CYP2D6 važno je kod onkoloških oboljenja. Naime Tamoxifen, antagonist estrogenskog receptora u tkivu prsa, koji se koristi u liječenju raka dojke (Abrial i sur 2009.), razgrađuje se u aktivni metabolit pomoću N-demetilacija i 4-hidroksilacija, a ovu razgradnju kontrolira gen CYP2D6 (Ingelman-Sundberg, 2005.). U onkološkom se liječenju analiza gena CYP2D6 koristi i kod akutne leukopenije, pancitopenije te mijelosupresije (Abrial i sur. 2009.). Važnost prisutnosti određenog alela gena CYP2D6 prepoznata je i u liječenju kardioloških bolesti. Perheksilin je antianginalni lijek koji se koristi u liječenju bolesnika sa simptomima koronarnih bolesti srca (Ashrafian i sur. 2007.). Djelatna tvar u perheksilinu je monohidroksilacija, koju isključivo katalizira enzim kodiran genom CYP2D6. Prisutnost različitih alela ovog gena u genotipu različitih osoba povezane su s izrazitim varijacijama u djelovanju perheksilina. Tako kod nositelja alela za sporu razgradnju,

razgradnja perheksilina bude i do 100 puta manje učinkovita nego kod brzih razgraditelja (Barclay ML i sur. 2003.). Perheksilin je u određenim koncentracijama toksičan za jetru i periferni živčani sustav, te je toksičnost povezana s varijantom gena CYP2D6. Stoga je važno identificirati varijantu gena CYP2D6 u genotipu pacijenata koji se liječe perhesilinom (Ingelman-Sundberg, 2005.).

2.2. Enzim tiopurin metiltransferaza

Tiopurin-s-metiltransferaza (TMPT) je enzim koji je uključen u metabolizam djelatnih tvari iz grupe tiopurina, u koju spadaju azatioprin, 6-merkaptopurin i 6-tiogvanin. Tiopurini su tzv. prolijekovi (od engl. prodrugs) koji u organizam dolaze inaktivni te prelaze u aktivni oblik intracelularno, putem normalnog puta metabolizma (Slika 3.). Lijekovi iz te grupe se primjenjuju u liječenju leukemija ili za imunosupresiju (Shipkova i sur. 2003.). Otprilike 90 % bjelačke populacije pokazuje normalnu aktivnost tiopurin-s-metiltransferaze, dok je kod 10 % aktivnost smanjena zbog genetičkog uzroka, a kod jedne od 300 osoba je aktivnost izuzetno smanjena (Weinshilboum i sur. 2003.). Ukoliko je djelatna tvar azatioprin u terapiji koju koristi osoba koja pokazuje sniženu ili izuzetno sniženu aktivnost tiopurin-s-metiltransferaze dolazi vrlo često do nuspojava kao što je razgradnja koštanoga tkiva. Farmakogenetički testovi su ovdje od velike koristi u određivanju pravilne terapije, odnosno točno određene koncentracije djelatne tvari te se rizici od nuspojava drastično smanjuju. Gen za tiopurin-s-metiltransferazu se nalazi na kromosomu 6 (6p22), veličina mu je 25 kb te se sastoji od 9 introna i 10 egzona. Gen TMPT se eksprimira u različitim tipovima tkiva, s najvišom razinom ekspresije u jetri, a najnižom u mozgu i plućima. Postoje dvije metode za određivanje ekspresijske razine gena TMPT i te metode uključuju fenotipski i genotipski pristup. Fenotipski pristup podrazumijeva inkubiranje pune krvi sa 6-merkaptopurinom ili 6-tiogvaninom i metilnim donorom S-adenozil-L-metioninom kako bi nastao 6-merkaptometilpurin ili 6-metilgvanin, koji se tada mogu detektirati masenom spektrometrijom, HPLC-om (od engl. High-performance liquid chromatography) ili fluorescencijskim metodama. Genotipski pristup uključuje različite metode od kojih se mogu istaknuti metoda sa restrikcijskim endonukleazama, konformacijski polimorfizam jednostrukih lanaca (SSCP9), amplifikacijski refraktorni mutacijski sustav (ARMS), denaturirajuće HPLC

sekvenciranje te fluorescentna hibridizacija uz korištenje LightCycler instrumenata (Ford i sur. 2010.).



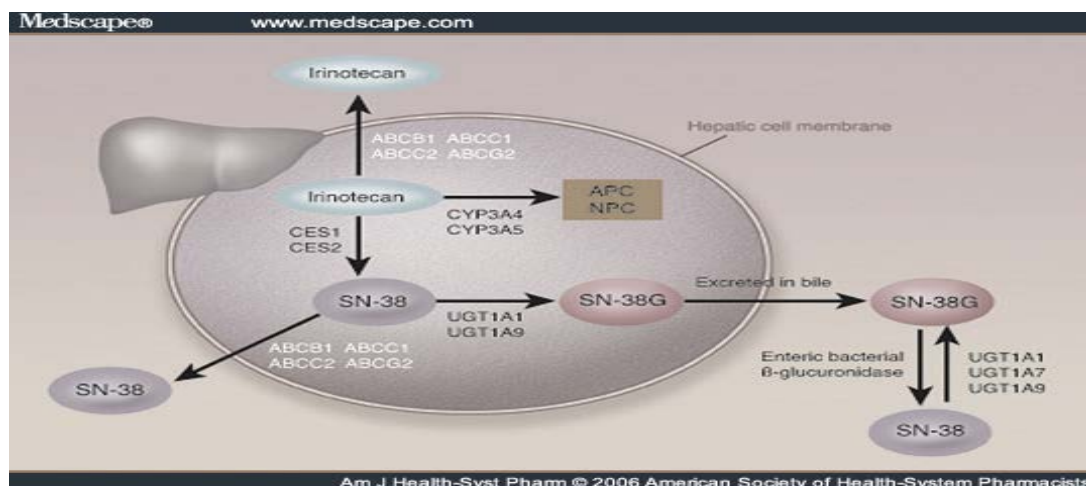
Slika 2. Metabolizam azatiopirina (izvor: <http://jcp.bmj.com/content/63/4/288.long>)

2.3. Enzim UGT_{1A}₁

Uridin glukorontransferaze su enzimi koji pripadaju skupini konjugantnih enzima koji sudjeluju u ekskreciji nekoliko različitih molekula tako da prenose glukuronsku kiselinu na svoj supstrat. Mogu se podijeliti u dvije grupe, UGT₁ i UGT₂. Grupa UGT₂ uključuje osam različitih proteina, koji su kodirani genima smještenim na kromosomu 14q13. U grupu UGT₁ ulazi podgrupa UGT_{1A} koja uključuje devet proteina kodiranih genom UGT_{1A} smještenim na kromosomu 2q37. Katalitička aktivnost enzima UGT_{1A} uključena je u konjugaciju bilirubina te mnogih farmakoloških tvari. Danas je poznato više od 150 polimorfizama lokusa UGT_{1A} i 113 funkcionalnih varijeteta gena UGT_{1A}₁. Najznačajniji polimorfizam je UGT_{1A}₁ *28 koji u

svojoj promotorskoj regiji sadrži 7 ponavljanja timin-adenin (TA). Pacijenti s takvim genotipom imaju jedno TA ponavljanje više nego divlji tip ovog gena (UGT_{1A1}^*1) koji u promotorskoj sekveci ima 6 ponavljanja timin-adenin (TA). Duljina TA ponavljanja obrnuto je proporcionalna s aktivnosti enzima UGT_{1A1} . Kad je alel UGT_{1A1}^*28 prisutan na samo jednom kromosomu, dolazi do smanjenja enzimске aktivnosti za 25 %. Ukoliko je alel UGT_{1A1}^*28 homozigotan transkripcija gena UGT_{1A1} je smanjena za 70 %. Polimorfizam UGT_{1A1}^*28 se povezuje sa Gilbertovim sindromom, koji je karakteriziran nakupljanjem nekonjugiranog bilirubina u krvi (<http://www.mayoclinic.org/diseasesconditions/gilbertssyndrome/basics/definition/con-20024904>) (Marques i sur. 2010.).

Mnoge supstance koje se nalaze u okolišu kao što su, razni mutageni ksenobiotici i lijekovi mogu biti supstrati za enzim UGT_{1A1} . Primjeri su lijekovi poput irinotecana, acetaminofena, karvedilola i simvastatina. Irinotecan se koristi u liječenju kolorektalnog tumora, spada u skupinu prolijekova koji pri aktivaciji prelazi u SN-38 oblik, a kojega enzim UGT_{1A1} konjugira u SN-38G glukoronski oblik te na poslijetku u glukorinid koji se izlučuje iz organizma (Slika 3.). Glukorinidi su hidrofilniji pa se zato lakše izlučuju iz bubrega i omogućuju pravilnu detoksifikaciju. Pacijenti s varijantom UGT_{1A1}^*28 podliježu većem riziku od nuspojava zbog niže stope stvaranja glukoronske kiseline odnosno glukorinida pa je pravilna detoksifikacija lijeka onemogućena. Posljedice neadekvatne detoksifikacije su dijareja, mijelosenosupresivni efekti i neutropenija. Iz tog razloga razvijene su metode za UGT_{1A1} TA genotipizaciju. U Sjedinjenim Američkim Državama koristi se komercijalno dostupan Invader UGT_{1A1} Molecular Assay za određivanje alela UGT_{1A1}^*1 i alela UGT_{1A1}^*28 gena UGT_{1A1} u genotipu pacijenata (Hahn i sur. 2006.).



Slika 3. Metabolizam irinotecana (izvor: http://www.medscape.com/viewarticle/548037_2)

2.4. Dihidropirimidin dehidrogenaza

Dihidropirimidin dehidrogenaza je enzim koji je uključen u razgradnju pirimidina. Dihidropirimidin dehidrogenaza uključen je u početni korak u katabolizmu uracila i timina te sudjeluje u razgradnji kemoterapijskih lijekova poput 5-floururacila (Kuilenburg, 2000.). Dihidropirimidin dehidrogenaza nastaje transkripcijom DPYD gena, smještenog na kromosomu 1p22 (Amstutz i sur. 2012.).

Flour pirimidin 5-floururacil spada u skupinu prolijekova te se koristi u liječenju mnogih vrsta tumora. Tijekom liječenja s 5-floururacilom zabilježene su mnoge nuspojave kao što su mijelosupresija, palmo-plantarna eritrodizestezijska diareja te povremeno kardiološko trovanje. Nuspojave su povezane s neefikasnom razgradnjom 5-floururacila, a koja je rezultat polimorfizma i mutacija gena DPYD (Staveren i sur. 2013.).

Istraživanja su pokazala da je unutar grupe pacijenata (227) s fenotipom okarakteriziranim toksičnim djelovanjem 5-floururacila prisutno 27 ljudi odnosno 12% sa delecijama u genu DPYD, 12 ljudi (5%) imalo je mutaciju IVS14+1 G>A, 11 ljudi (5%) mutaciju D949D i 4 ljudi (2%) neku drugu mutaciju. U kontrolnoj grupi samo je 7 pacijenata od 192 (4%) pokazalo aberantni gen DPYD. Dva pacijenta (1%) imala su mutaciju IVS14+1 G>A, 4 (2%) pacijenata mutaciju D949D i jedan je pacijent pokazao neku drugu mutaciju. Ovi rezultati ukazuju na to da je farmakogenetičko testiranje prije terapije sa 5-floururacilom vrlo bitno (Saif i sur. 2013.).

Postotak pojedinaca koji ima mutaciju u genu DPYD je nešto niži od od pojedinaca koji imaju mutaciju UGT_{1A1} ili TMPT, no ishodi pacijenata s deficitarnom dihidro-pirimidin dehidrogenazom su puno teži. Važno je naglasiti da neefikasna aktivnost enzima nije samo posljedica genetičkih mutacija, već i nepravilne epigenetičke regulacije uključujući aberantnu metilaciju DNA molekule. Uzimajući u obzir kompleksnost metabolizma pirimidina i 5-floururacila te vanjske čimbenike koji utječu na epigenetičku informaciju testiranje samo jednog alela nije dostatno za dobivanje kompletnog uvida u potencijalnu toksičnost 5-floururacila. Nedavno je razvijen Test daha (13C-UraBT) koji u testiranju integrirano obuhvaća pirimidinski katabolički put (Ezzeldin i sur. 2006.). Danas se primjenjuje i farmakogenetički pristup analize koji koristi haplotipske blokove i pojedinačne nukleotidne polimorfizme za označavanje čitavog metaboličkog puta 5-floururacila (Bocci i sur. 2006.).

3. Biomarkeri u personaliziranoj medicine

Prema Gallo i sur. biomarker je svaka tvar ili biološka struktura (npr. protein ili produkt metabolizma) koju je moguće izmjeriti u ljudskom tijelu i koja može objasniti uzrok neke bolesti ili predvidjeti bolest. Prema "Biomarkers Definitions Working Group" biomarker je karakteristika koja objektivno može biti izmjerena te evaluirana kao indikator normalnog biološkog procesa, patološkog procesa ili odgovor na terapijsku intervenciju.

U personaliziranoj medicini se razlikuju dvije grupe biomarkera, a to su prognostički i prediktivni biomarkeri. Prema Buyse i sur. (2011) prognostički biomarkeri sudjeluju u prognozi stanja pacijenta, dok prediktivni daju odgovor kako pojedinac reagira na određeno liječenje. Nadalje biomarkere možemo podijeliti na DNA biomarkere, tumorske biomarkere te opće biomarkere. U DNA biomarkere ubrajamo SNPs molekule (od engl. single nucleotide polymorphism), STRs molekule (od engl. short tandem repeats), delecije, insercije ili ostale varijacije sekvence molekule DNA. U tumorske biomarkere ubrajamo različite biomolekule kao što su ugljikohidrati, proteini, RNA molekule ili faktori rasta koje povezujemo s razvojem specifičnih tkivnih tumora. U skupinu općih biomarkera spadaju svi ostali biomarkeri kao što su RNA molekule, proteini te produkti metabolizma. Glavna razlika između DNA biomarkera i tumorskih markera te općih biomarkera je stabilnost i dugovječnost DNA biomarkera. Prednost DNA biomarkera se očituje i u lakšem mjerenju. DNA biomarkeri pokazuju (kao i tumorski biomarkeri) i neke mane, naime oni ne mogu biti korišteni u monitoringu terapije, farmakodinamici ili ne mogu poslužiti kao zamjenski biomarkeri. U tim se slučajevima koriste opći biomarkeri. Prednost općih biomarkera je stabilnost, odnosno kontinuiranost mjerenja, koje se provodi u bilo koje vrijeme iz krvne plazme. Uz DNA biomarkere, tumorske biomarkere te opće biomarkere postoji čitav niz drugih biomarkera kao što su epigenetički (mjerenje metilacije DNA molekule i ostalih post-translacijskih modifikacija histona, mikroRNA molekula), toksikološki biomarkeri (mjerenje toksikološkog efekta lijekova), monitoring biomarkeri (monitoring efikasnosti ili nuspojava lijekova), dijagnostički biomarkeri (Ziegler i sur. 2012.).

Biomarkeri, kao alat personalizirane medicine, pridonose vrlo učinkovitoj dijagnostici, te određivanju egzaktno terapije za pojedinog pacijenta. Probirni (od engl. screening)

biomarkeri svrstavaju se u skupinu dijagnostičkih biomarkera, koji se koriste u raspoznavanju zdravih pojedinaca od pojedinaca kod kojih se razvija bolest (dijagnostika ranog stadija). Kao primjer mogu poslužiti komercijalno dostupni testovi POCT (od engl. point of care tests) kao što su „Rheuma-Chec“, „CCPoint“, Test serum za mutirani citrulinirani vitmentin (MCV) ili citrulinirani peptid/protein (anti CCP protutijela). Primjerice, navedeni testovi služe otkrivanju reumatoidnog artritisa u zdravih ljudi bez simptoma. Kao primjer prediktivnog biomarkera može poslužiti tumorski DNA biomarker pod trgovačkim imenom Blue print®. To je biomarker koji se koristi nakon operativnog zahvata kod dijagnosticiranog raka dojke s ciljem utvrđivanja daljnje individualne terapije. EGFR (od engl. epidermal growth factor receptor) je također prediktivni tumorski DNA biomarker koji se primjenjuje nakon dijagnosticiranog raka pluća kako bi se odabrala ili odbacila kemoterapija. IL28B (interleukin 28B) je prediktivni DNA biomarker korišten nakon dijagnosticiranog hepatitisa C (virusa 1), a ishod testa određuje vrstu lijekova koji će se pri terapiji primjenjivati, odnosno da li je pegilirana interferon/ribavirin terapija odgovarajuća za pojedinog pacijenta (Ziegler i sur. 2012.).

Metabolički biomarkeri imaju veliki značaj u dijagnosticiranju multifaktorijalnih bolesti koji kod kliničke prezentacije izgledaju homogene, ali su s molekularnog stajališta vrlo heterogene. Analiza metabolizma omogućuje pravovremenu dijagnostiku i određivanje personalizirane terapije. U analizi metabolizma se koristi masena spektrometrija ili NMR (od engl. nuclear magnetic resonance) spektroskopija. Prednosti dijagnostike koja koristi metaboličke biomakere su niska cijena, brzina, automatizacija, minimalna invazivnost te dobivanje široke slike statusa pacijenata. Uspostavljeni i karakterizirani metabolički obrazac može tada biti korišten u analizi pojedinih biomarkera. Metabolički biomarkeri su posebno važni u dijagnostici u kardiologiji, endokrinologiji i onkologiji (Baraldi i sur. 2009) (Tablica 1.).

Tablica 1. Metabolički biomarkeri povezani s tumorima (Izvor: Griffin et al., Nature reviews 4, 2004.

Metabolite*	Metabolic function	Associated tumours/characteristics
Alanine	In conjunction with lactate, increases in tissues during hypoxia; made by transamination of pyruvate to prevent further increases in lactate ⁸¹	Hepatoma and brain tumours, including astrocytomas, metastases, gliomas, meningiomas and dysembryoplastic neuroepithelial tumours
Saturated lipids	An important constituent of cell membranes, although membrane lipids are poorly resolved by NMR; lipid peaks detected by NMR are believed to either be present in cell-membrane microdomains or in cytoplasmic vesicles	Alterations in levels associated with proliferation, inflammation, malignancy, necrosis and apoptosis ^{20,29,33,39,82}
CCMs	Include choline, phosphocholine, phosphatidylcholine and glycerophosphocholine; these are key constituents of cell membranes	Levels change during apoptosis and necrosis; the tumour types that these changes have been found in include brain, sarcomas, prostate and hepatoma ³¹⁻³⁴
Glycine	An amino acid and an essential precursor for <i>de novo</i> purine formation	Decreased following disruption of the HIF-1 signalling pathway ³⁶
Lactate	An end product of glycolysis	Increases rapidly during hypoxia and ischaemia; poorly vascularized tumours have a low intracellular pH as a result of increased lactate production; increased rates of lactate production have been associated with a range of tumours and, in particular, certain types of neoplasms ⁸³
Myo-inositol	Involved in osmoregulation and volume regulation	Increased in colon adenocarcinoma, glioma, schwannomas, ovarian carcinoma, astrocytoma and endometrial cells ^{43,55} ; decreased in breast tumours ⁸⁴
Nucleotides	Used to manufacture DNA and RNA; also key metabolic intermediates in fatty-acid and glycogen metabolism; changes in ATP concentration also indicate the energetic status of the tumour	Increased in glioma during apoptosis ⁴¹ ; CDP-choline is also increased during apoptosis ^{19,85}
PUFAs	Constituents of cell membranes, especially mitochondrial	Increased in glioma cells undergoing apoptosis ^{20,21} , and in dedifferentiated and pleomorphic liposarcomas ⁸⁶
Taurine	Important in osmoregulation and volume regulation; hypotaurine is also an antioxidant and might protect cells from free-radical damage	Increased in squamous-cell carcinoma ⁸⁷ , prostate cancer and liver metastasis ⁸⁸

4. Personalizirani pristup u liječenju HIV-a

U pet do 8% pacijenata koji se liječe lijekom Ziagen® (aktivna tvar abakavir) dolazi do simptoma preosjetljivosti u više organa na taj lijek, što u pojedinim slučajevima može imati teške posljedice. Nuspojava je povezana s genom HLA-B*5701, koji se može lako identificirati genetičkim testom. Gotovo svi pacijenti koji primaju taj lijek su testirani za gen HLA-B*5701, što značajno poboljšava sigurnost primjene. Korištenje genetičkih markera omogućava efikasniju i sigurniju primjenu lijeka te pri odabiru ima dodatnu selekciju ovisno o populaciji gdje se primjenjuje. Na primjer kod korištenja HIV lijekova Stocrin® i Sustiva® (djelatna tvar efavirenz) pri liječenju HIV-a standardne doze lijeka mogu uzrokovati nuspojava zbog prisutnosti alela CYP2B6 * 6. Prisutnost alela CYP2B6 *6 rezultira sporijim metabolizmom lijeka. Alel CYP2B6 *6 je znatno češći u Afričkoj nego Europskoj populaciji. Smanjivanjem doze u pacijenata s tim alelom uzrokuje smanjenje štetnih učinaka (Lengauer i sur. 2014.), (Barco i sur. 2013.).

5. Literatura

Abrial C, Durando X, Mouret-Reynier M, Thivat E, Bayet M, Nay B, Dubray P, Pome C, Chalote P, Llorca F. 2009. Role of neo-adjuvant hormonal therapy in the treatment of breast cancer: a review of clinical trials, *International Journal of General Medicine*.

Amstutz U, Froehlich TK, Largiadèr CR. 2011. Dihydropyrimidine dehydrogenase gene as a major predictor of severe 5-fluorouracil toxicity. *Pharmacogenomics*. 12(9):1321-36. doi: 10.2217/pgs.11.72.

Ashrafian H, Horowitz JD, Frenneaux MP. 2007. Perhexiline. *Cardiovasc Drug Rev*. Spring;25(1):76-97.

Barclay ML, Sawyers SM, Begg EJ, Zhang M, Roberts RL, Kennedy M. 2003. Correlation of CYP2D6 genotype with perhexiline phenotypic metabolizer status. *Pharmacogenetics* 13: 627–632.

Baraldi E., Carraro S, Giordano G., Reniero F. Perilongo G., Zacchello F. 2009. Metabolomics: moving to wards personalized medicine, *talian Journal of Pediatrics*, 35:30 doi:10.1186/1824-7288-35-30.

Barco A. i Rodríguez Nóvoa S. 2013. The Pharmacogenetics of HIV Treatment: A Practical Clinical Approach, *Pharmacogenom Pharmacoproteomics*, 4:1 doi: 10.4172/2153-0645.1000116.

Biomarkers Definitions Working Group Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework, Article first published online: 18 MAR 2001 DOI: 10.1067/mcp.2001.113989.

Buyse M, Michiels S, Sargent D. J, Grothey A, Matheson A, i Gramont de I. 2011. Integrating biomarkers in clinical trials, Vol. 11, No. 2, Pages 171-182, doi:10.1586/erm.10.120.

Bocci G., Barbara C., Vannozzi F., Di Paolo A., Melosi A., Barsanti G., Allegrini G., Falcone A., Del Tacca M., Danesi R. 2006. A pharmacokinetic-based test to prevent severe 5-fluorouracil toxicity., Clin Pharmacol Ther. 80(4):384-95.

Ingelman-Sundberg M. 2005 Genetic polymorphisms of cytochrome P4502D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity, The Pharmacogenomics Journal, Nature Publishing Group All rights reserved 1470-269X/05.

Ford L. T., Berg J. D. 2010. Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) assessment prior to starting thiopurine drug treatment; a pharmacogenomic test whose time has come, J Clin Pathol, 63:288-295.

Gallo V. i sur. 2011. STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology – Molecular Epidemiology (STROBE-ME): An Extension of the STROBE Statement, DOI: 10.1371/journal.pmed.1001117, Featured in PLOS Collections.

Hahn Kristine K, Wolff James J, Kolesar Jill M. 2006. Pharmacogenetics and Irinotecan Therapy, American Journal of Health-System Pharmacy. 2006; 63(22):2211-2217.

Ezzeldin H. i Diasio. R. B. 2006. Genetic Testing in Cancer Therapeutics, Clin Cancer Res, 12; 4137, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0707.

LLerena A, Dorado P, Peñas E. M. 2009. Lledó Pharmacogenetics of debrisoquine and its use as a marker for CYP2D6 hydroxylation capacity, Pharmacogenomics, Vol. 10, No. 1 , Pages 17-28.

Lengauer T, Pfeifer N, Kaiser R. 2014 Personalized HIV therapy to control drug resistance, Drug Discovery Today: Technologies Vol. 11, Pages 57–64, doi:10.1016.

Levenson V. V. 2010 DNA methylation as a universal biomarker, *Expert Rev Mol Diagn.* 10(4): 481–488. doi:10.1586/erm.10.17.

Kollek R, Feuerstein G, Schmedders M, Aken van A. 2004. *Pharmakogenetik: Implikationen für Patienten und Gesundheitswesen. Anspruch und Wirklichkeit der 'individualisierten Medizin'*, Nomos Verlagsgesellschaft, Baden-Baden, ISBN 3-8329-0598-7.

Kuilenburg van A. B, P., Haasjes J, Richel D, Zoetekouw L, Lenthe van H, De Abreu R. A, Maring J. G. Vreken P. i Gennip van A. 2000. Clinical Implications of Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) Deficiency in Patients with Severe 5-Fluorouracil-associated Toxicity: Identification of New Mutations in the DPD Gene, *Clinical Cancer Research*, Vol. 6, 4705–4712.

Koch A, Krockenberger K, Großhennig A. 2012. Personalized medicine using DNA biomarkers: a review, *Hum Genet* 131:1627–1638, DOI 10.1007/s00439-012-1188-9.

Marques, S. C. i Ikediobi, O. N. 2010. The clinical application of UGT1A1 pharmacogenetic testing: Gene-environment interactions. *Human Genomics*, 4(4), 238–249. doi:10.1186/1479-7364-4-4-238.

Saif MW. 2013. Dihydropyrimidine dehydrogenase gene (DPYD) polymorphism among Caucasian and non-Caucasian patients with 5-FU- and capecitabine-related toxicity using full sequencing of DPYD., *Cancer Genomics Proteomics*. (2):89-92.

Shipkova M, Ahsen N. 2003. Therapie mit Thiopurin-Medikamenten – TDM und Pharmakogenomik der TPMT. *J Lab Med* 2003; 27: 211 – 221.

Staveren van M. C, Guchelaar H. J, Kuilenburg van A. B. P, Gelderblom H. i Maring J. G. 2013. Evaluation of predictive tests for screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency, The Pharmacogenomics Journal (2013) 13, 389–395; doi:10.1038/tpj.2013.25.

Scott S. A. 2011. Personalizing medicine with clinical pharmacogenetics, Genet Med. 13(12): 987–995. doi:10.1097/GIM.0b013e318238b38c.

Weinshilboum R, Engl N. 2003. Inheritance and Drug Response Med 2003; 348:529-537.

https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_diagnostics#/media/File:Microarray_Comparative_Genomic_Hybridisation.jpg

<http://www.genome.gov/glossary/index.cfm?id=150>

http://www.genome.gov/Pages/About/NHGRI_Brochure_2015.pdf

<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/DPYD>

<http://www.mayoclinic.org/diseasesconditions/gilbertssyndrome/basics/definition/con-20024904>

https://www.researchgate.net/publication/237621806_Pharmakogenetische_Tests_in_der_zukunftigen_medizinischen_Versorgung_Implikationen_fr_Patienten_undrzte

6. Sažetak

Budućnost medicine nalazi se u ranoj diagnostici i individualno dizajniranom liječenju. Personalizirana medicina je novi pristup u klasifikaciji, razumijevanju, liječenju i prevenciji bolesti baziran na individualnim biološkim informacijama i okolišnim razlikama. Personalizirana medicina predstavlja transformaciju, od reaktivne medicine ka proaktivnoj medicini. Bitno razmatranje u personaliziranoj medicini je osigurati odgovarajuću medicinsku skrb određenom pacijentu i to na vrijeme. Uzimajući u obzir različite faktore koji uzrokuju bolest u pojedinaca, uključujući genetičke i ostale biološke faktore kao i način života.

Ovaj seminar se bavi bazičnim konceptima i primjenom personalizirane medicine. Predstavljaju se tehnike i koncepti koji omogućavaju razvoj krojenog liječenja koje vrlo brzo odgovara na razvoj bolesti i koje uključuje preventivno djelovanje. Objašnjava se važnost molekularne dijagnostike, uključujući farmakogenetiku, biomarkere i kliničku upotrebu.

7. Summary

The future in the medicine lies in early diagnosis and individually tailored treatment. Personalized medicine is a new approach to classify, understand, treat and prevent disease based on individual biological informations and enviromental differrences. Personalized medicine presents a transormation, from reactive medicine to proative medicine. An important consideration for personalized medicine is to provide the right medicine to the right patient at the right time. Personalized medicine takes into account the factors that can influence the development of a desease in a given individual, including not only genomic and biological factors but also the influence of the personal lifestyle.

This work is dealing with the basic concepts and usage of personalized medicine. This paper presents techniques and concepts that enable us to tailor treatment of existing disorders, responde more rapidly on developing diseases and take preventive mesuares. The purpose is to explain the importance of moleculare diagnosis including pharmacogenetics, biomarkers and clinical usage of personalized medicine.